

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **10114660 A**(43) Date of publication of application: **06.05.98**

(51) Int. Cl.

A61K 31/725**A61K 31/695****A61K 45/00****A61K 47/48**(21) Application number: **08267370**(22) Date of filing: **08.10.96**(71) Applicant: **TOYOBO CO LTD**

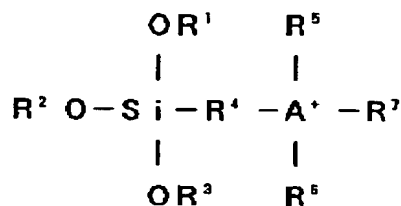
(72) Inventor: **KADOTA NORIKO**
SEKO MASAHIRO
YOKOTA HIDEYUKI
ARIMORI KANA
TANAKA MASAKAZU

**(54) ANTITHROMBOGENIC COMPOSITION HAVING
 ANTIMICROBIAL PROPERTY**

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject composition having convenience and general purpose properties and capable of exhibiting long-term antithrombogenic property as well as antimicrobial property by using a mucopolysaccharide-alkoxysilane-containing compound conjugate.

SOLUTION: This antithrombogenic composition comprises an ionic conjugate of (A) at least one kind of mucopolysaccharide, preferably heparin and (B) a quaternary ammonium compound having a trialkoxysilyl group in the molecule or a quaternary phosphonium compound having a trialkoxysilyl group in the molecule. Furthermore, the component B preferably has a structure represented by the formula (A is P or N; R¹ to R³, R⁵ and R⁶ are each a 1-12C alkyl, a 6-12C aryl or a 7-20C aralkyl; R⁴ is a 1-12C alkylene, a 6-12C arylene or 7-20C aralkylene; R⁷ is a 1-25C alkyl) and e.g. 3-(triethoxysilyl)propyl-dimethyloctadecyl ammonium chloride, etc., is preferably used as the component B.



COPYRIGHT: (C)1998,JPO

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-114660

(43) 公開日 平成10年(1998) 5月6日

(51) Int.Cl.⁹
A 6 1 K 31/725
31/695
45/00
47/48

識別記号
A D Z
A C B

F I
A 6 1 K 31/725
31/695
45/00
47/48
A D Z
A C B
Z

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平8-267370

(22) 出願日 平成8年(1996)10月8日

(71) 出願人 000003160

東洋紡績株式会社

大阪府大阪市北区堂島浜2丁目2番8号

(72) 発明者 門田 典子

滋賀県大津市堅田二丁目1番1号 東洋紡
績株式会社総合研究所内

(72) 発明者 世古 政弘

滋賀県大津市堅田二丁目1番1号 東洋紡
績株式会社総合研究所内

(72) 発明者 横田 英之

滋賀県大津市堅田二丁目1番1号 東洋紡
績株式会社総合研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗菌性付与抗血栓性組成物

(57) 【要約】

【課題】 簡便性、汎用性に加え長期間の抗血栓性を発揮すると同時に、抗菌性をも発揮することが可能な抗菌性付与抗血栓性組成物を提供する。

【解決手段】 少なくとも1種のムコ多糖と、分子内にトリアルコキシシリル基を有する第4級アンモニウムもしくは分子内にトリアルコキシシリル基を有する第4級ホスホニウム化合物とのイオン性複合体から成る抗菌性付与抗血栓性組成物。

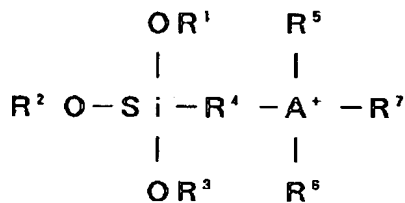
【特許請求の範囲】

【請求項1】 少なくとも1種のムコ多糖類と、分子内にトリアルコキシシリル基を有する第4級アンモニウム化合物もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を有する第4級ホスホニウム化合物とのイオン性複合体から成る抗菌性付与抗血栓性組成物。

【請求項2】 ムコ多糖類がヘパリンである請求項1に記載の抗菌性付与抗血栓性組成物。

【請求項3】 分子内にトリアルコキシシリル基を有する第4級アンモニウム化合物もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を有する第4級ホスホニウム化合物が下記化1に示す構造であることを特徴とする請求項1または2に記載の抗菌性付与抗血栓性組成物。

【化1】



化1においてAはP（リン原子）またはN（窒素原子）を示す。R¹、R²、R³、R⁵、R⁶は炭素数1～12のアルキル基、炭素数6～12のアリール基あるいは炭素数7～20のアラルキル基を示す。R⁴は炭素数1～12のアルキレン基、炭素数6～12のアリーレン基または炭素数7～20のアラルキレン基を示す。R⁷は炭素数1～25のアルキル基を示す。なお、R¹、R²、R³、R⁵、R⁶、R⁷はそれぞれ同じであっても異なってもよい。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ムコ多糖類と分子内にトリアルコキシシリル基を持つ第4級アンモニウム化合物もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を持つ第4級ホスホニウム化合物のイオン性複合体であることを特徴とする抗菌性付与抗血栓性組成物に関するものである。

【0002】

【従来の技術】加工性、弾性、可撓性に優れた人工材料は近年医療用材料として広く利用されるようになってきているが、人工腎臓、人工肺、補助循環装置、人工血管等の人工臓器や、注射器、血液バッグ、心臓カテーテル等のディスプレイ製品として今後益々利用が拡大することが予想される。これらの医用材料としては、十分な機械的強度や耐久性に加えて、生体に対する安全性、特に血液と接触した場合に血液が凝固しないことすなわち抗血栓性が要求される。

【0003】従来、医療用材料に抗血栓性を付与する手法としては、（1）材料表面にヘパリン等のムコ多糖類やウロキナーゼ等の線溶活性因子を固定させたもの、

（2）材料表面を修飾して陰電荷や親水性などを付与したもの、（3）材料表面を不活性化したものの3通りに大別できる。このうち（1）の方法（以下、表面ヘパリン法と略記する）は、さらに（A）ポリマーと脂溶化したヘパリンのブレンド法、（B）脂溶化したヘパリンでの材料表面被覆法、（C）材料中のカチオン性基にヘパリンをイオン結合させる方法、（D）材料とヘパリンを共有結合させる方法に細分類される。

【0004】上記の方法のうち（2）、（3）の方法は、長期的に体液と接触した場合に材料表面にタンパクが吸着して生体膜類似表面を形成し、安定した抗血栓性を得ることが可能である。しかしながら、材料を生体内（血液接触部位）に導入した初期段階では生体内において種々の凝固因子等が活性化された状態にあるため、ヘパリン投与などの抗凝血療法を施すことなしに十分な抗血栓性を得るのは困難である。

【0005】これに対して（1）の方法は、導入初期段階には表面上のヘパリンやウロキナーゼによって抗血栓性または生成した血栓の溶解性能が発揮されるが、長期間の使用によって一般的に性能が低下する傾向にある。すなわち（A）、（B）、（C）では、通常生理条件下での長期の使用によってヘパリン類が脱離し易く、生体内に固定して用いる医療用材料としては十分な性能が得られにくい。また、（D）で得られる材料では、ヘパリンが共有結合されているため脱離しにくいという利点を有するが、従来の結合方法では往々にしてヘパリンの構成成分であるD-グルコサミンやD-グルクロン酸のコンフォメーションに変化を与えてしまい抗凝血効果を低下させてしまうという欠点がある。

【0006】また（C）、（D）の方法では、ヘパリンの固定化に利用できる官能基を含む材料を選択するかあるいは新たに導入する必要がある。このため材料の選択の幅が狭められたり、官能基の導入によって材料の機械的強度が低下する可能性がある。また操作の煩雑化によって、医療用材料を得る工程数が増加するという問題もある。

【0007】このように材料の抗血栓性化の容易さ、適用できる材料の選択の幅の広さから考えると、（A）ポリマーと脂溶化したヘパリンのブレンド法もしくは（B）脂溶化したヘパリンでの材料表面被覆法が最も優れた方法であると言える。しかしながら、この方法の致命的欠点は既述の通り生理条件下での長期の使用によってヘパリン類が脱離し易いという点である。逆に言えば、この欠点を克服することによって簡便性、汎用性に富む優れた抗血栓性化を提供することが可能になる。

【0008】この問題を解決する手段としては、たとえば特開平2-270823に開示されている方法がある。この方法は天然ムコ多糖類と天然脂質もしくは合成脂質との複合体を形成させることを特徴としており、ヘパリンと生体内リン脂質の複合体で材料表面を被覆する

技術が好ましい例として挙げられている。しかしながら、この方法はヘパリン溶出に伴って同時に溶出されるカチオン性物質（脂溶化剤）が天然脂質もしくは合成脂質であるため、生体に悪影響を及ぼしにくいという点においてのみ有用であると言える。すなわち、この方法によって長期間使用時のヘパリンの溶出による抗血栓性の低下が解決されたとは言い難い。

【0009】さらにケイ素含有化合物とヘパリンとの複合体を抗血栓性材料に使用方法が、特公昭53-9800や特公昭55-25852などに開示されている。しかしこれらの方法では、いずれもシランカップリング剤とヘパリンとを共有結合によって結合させ、得られる含ケイ素改質ヘパリンをさらに成形材料に固定化している。この方法では、共有結合によるコンフォメーション変化によってヘパリンの活性が低下する可能性がある。また特公平3-66904、特開昭62-136241にはシランカップリング剤を介して生理活性物質を固定化する手法が開示されているが、これらの方法では成形体表面にアミノ基含有シランカップリング剤を固定化し、導入されたアミノ基を利用して生理活性物質を固定化している。このような方法では生理活性物質の固定化が固一液の不均一系で行われるため、導入効率が低くなってしまいう可能性が大きく、実用にはやや問題が残存する。

【0010】従来、高栄養輸液カテーテル（以下IVHと略記する）など、長期間体内に留置する必要のある医用デバイスでは生体-材料界面からの感染が問題であった。血液と材料の接触によって生成した血栓に細菌が繁殖し、これが体内に入り込んで感染を引き起こす。したがって、このような医用デバイスに使用される材料には抗血栓性と抗菌性とを同時に併せ持つことが求められる。しかし、こうした抗菌性抗血栓性素材は強く望まれていたにもかかわらず、この分野に応用可能な素材はほとんど報告されていないのが現状である。

【0011】

【発明が解決しようとする課題】本発明は上記従来技術の欠点を解決して、簡便性、汎用性に加え長期間の抗血栓性を発揮すると同時に抗菌性をも発揮することが可能な抗菌性付与抗血栓性組成物を提供するものである。

【0012】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するため本発明者らは鋭意研究した結果、ムコ多糖-アルコキシシラン含有化合物複合体を用いることにより、優れた抗菌性および抗血栓性を示し、しかも長期間に及んでその性質が維持されることを見出し、本発明に到達した。即ち、本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物は、少なくとも1種のムコ多糖類と分子内にトリアルコキシシラン基を持つ第4級アンモニウム化合物もしくは分子内にトリアルコキシシラン基を持つ第4級ホスホニウム化合物とのイオン性複合体から成る組成物であることを特徴とす

る。さらに好ましくは、上記ムコ多糖類がヘパリンであり、また分子内にトリアルコキシシラン基を有する第4級アンモニウム化合物もしくは分子内にトリアルコキシシラン基を有する第4級ホスホニウム化合物が前記化1の構造を有することである。

【0013】本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物を、基材となる一般的なポリマー材料に導入することによって容易に材料の抗血栓性化が可能である。また本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物を使用することによって、長期間の溶出後も非常に優れた抗血栓性を維持することが可能である。さらに分子内の第4級アンモニウムもしくは第4級ホスホニウムの効果によって、抗血栓性と同時に抗菌性も材料に付与させることが可能である。

【0014】本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物を抗凝血剤として導入する基材ポリマーは特に限定されるものではなく、分子内に活性水素を持つ官能基があった場合、アルコキシシラン基との反応によって共有結合を介して第4級アンモニウム化合物もしくは第4級ホスホニウム化合物が導入され、より安定にヘパリンを固定化することが可能となる。具体的にはたとえばセルロース、ポリエーテルウレタン、ポリウレタン、ポリウレタンウレア、ポリ塩化ビニル、ポリエステル、ポリプロピレン、ポリエチレン、エチレン-ビニルアルコール共重合体（EVAL）、酢酸ビニル-ビニルアルコール共重合体など従来より使用されているものが挙げられる。また将来使用されるであろう材質も広く適用できる。この中でもセルロース、ポリ塩化ビニル、ポリウレタン、ポリエーテルウレタン、EVAL、酢酸ビニル-ビニルアルコール共重合体が特に好ましい。また既存及び新規の材質からなる血液透析膜、血漿分離膜、吸着剤などの血液処理剤に抗血栓性を付与する目的で導入することも可能である。

【0015】基材への導入方法も特に限定されないが、通常のブレンド法、コーティング法その他、本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物をポリマーにブレンドした後このブレンド材料をコーティングする方法なども挙げられる。コーティング方法についても塗布法、スプレー法、ディップ法など特に制限されることなく適用できる。一般的にバインダーとして使用させて組成物との混合物をコーティングする方法なども適用できる。またこの際コーティング層をより強固にするために加熱処理を行ってもよい。

【0016】本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物をブレンドによって基材に導入する場合の添加量は特に限定されるものではないが、基材100重量部に対して抗菌性付与抗血栓性組成物を0.1〜60重量部添加するのが好ましく、1〜30重量部程度の添加がさらに好ましい（以下、基材100重量部に対して添加剤1重量部を加えた場合、添加剤の添加量を1phrと示す）。

【0017】本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物におけ

るムコ多糖類としては、たとえばヘパリン、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、デルマトン硫酸、ケラタン硫酸などが挙げられる。この中でもヘパリンが特に好ましい。

【0018】本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物の必須成分である分子内にトリアルコキシシリル基を持つ第4級アンモニウム化合物もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を持つ第4級ホスホニウム化合物は、前記化1の構造を有するものが好ましい。分子内にトリアルコキシシリル基を持つ第4級アンモニウム化合物もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を持つ第4級ホスホニウム化合物は1種類のみ単独で用いても、何種類かを同時に用いてもよい。化1においてAはP（リン原子）またはN（窒素原子）を示す。R¹、R²、R³、R⁵、R⁶は炭素数1～12のアルキル基、炭素数6～12のアリール基あるいは炭素数7～20のアラルキル基を示すものであるが、炭素数1～5のアルキル基であることが好ましい。R⁴は炭素数1～12のアルキレン基、炭素数6～12のアリーレン基または炭素数7～20のアラルキレン基を示すが、炭素数1～5のアルキル基が好ましい。またR⁷は炭素数1～25のアルキル基を示すが、炭素数12～22のアルキル基が好ましい。なお、R¹、R²、R³、R⁵、R⁶、R⁷はそれぞれ同じであって異なっていることもよい。

【0019】分子内にトリアルコキシシリル基を有する第4級アンモニウム化合物もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を有する第4級ホスホニウム化合物としては、具体的にたとえば3-（トリメトキシシリル）プロピルジメチルオクタデシルアンモニウムクロライド、3-（トリエトキシシリル）プロピルジメチルオクタデシルアンモニウムクロライド、3-（トリメトキシシリル）プロピルジメチルヘキサデシルアンモニウムクロライド、3-（トリメトキシシリル）プロピルジメチルオクタデシルホスホニウムクロライド、3-（トリエトキシシリル）プロピルジメチルオクタデシルホスホニウムクロライド、3-（トリメトキシシリル）プロピルジメチルヘキサデシルホスホニウムクロライドなどが例示される。中でも、3-（トリエトキシシリル）プロピルジメチルオクタデシルアンモニウムクロライド、3-（トリエトキシシリル）プロピルジメチルオクタデシルホスホニウムクロライドが特に好ましいが、特にこれらに限定されるものではない。

【0020】上記ムコ多糖類と分子内にトリアルコキシシリル基を有する第4級アンモニウム塩もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を有する第4級ホスホニウム塩とのイオン性複合体を得る方法は特に限定されないが、たとえばムコ多糖類の水溶液もしくは分散液と分子内にトリアルコキシシリル基を有する第4級アンモニウム塩もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を有する第4級ホスホニウム塩のメタノール溶液もしくは分散液

を混合して得られた沈殿を回収、乾燥する方法などが挙げられる。

【0021】上記のようにして本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物が得られる。本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物は分子内にトリアルコキシシリル基を有するために、分子間の架橋反応性に富むことから、複雑に架橋することで複合体のネットワークを形成してより安定になり、基材ポリマーとの結合が強固になることによりヘパリンが溶出されにくくなり、生体成分との接触初期段階ではもちろん接触が長期に及んだ後も良好な抗凝血性が維持できる。また第4級アンモニウムもしくは第4級ホスホニウムの作用によって抗血栓性と同時に抗菌性をも導入することができる。

【0022】上記のような利点を活かして、本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物は各種の医療用器具あるいは機器類に使用される素材として広く適用できるものである。具体的にはたとえば、血液透析膜や血漿分離膜およびこれらのコーティング剤、血液中老廃物の吸着用コーティング剤に適用できる。また人工肺用の膜素材（血液と酸素の隔壁）や人工心肺におけるシート肺のシート材料、大動脈パルーン、血液バッグ、カテーテル、カニューレ、シャント、血液回路等の広範囲な分野に用いることができる。また抗菌性も同時に有する特長を活かして、従来、生体-材料界面からの感染が問題であったIVHなどへの適用には特に好適なものである。

【0023】

【実施例】以下、実施例を用いて本発明を説明する。なお、本発明は特にこれらに限定されるものではない。

【0024】＜実施例1＞ヘパリンナトリウム塩10.00gを蒸留水に溶解させて、全量で100mlとした。3-（トリメトキシシリル）プロピルジメチルアルキルアンモニウムクロライド（以下TSPNと略記する）20.4gをメタノール：蒸留水＝1：1の混合溶液200mlに溶解させ、全量で300mlとした。双方の溶液を氷冷下で混合し、そのまま4℃で15時間静置し懸濁液を得た。この懸濁液を3300rpmで遠心沈降させて回収し、さらに蒸留水を加え懸濁させた後遠心分離によって沈殿を洗浄する操作を3繰返し、その後沈殿を乾燥させTSPN・Cl-ヘパリン複合体（以下TSPN-He pと略記する）を得た。

【0025】市販ポリウレタン（Pellethane（商品名）、以下PUと略記する）をTHFに溶解して5%溶液とした。このPU溶液1000gに対し、上記で得たTSPN-He p1.00gを加えた。このTSPN-He p/PUブレンド溶液20gを水平に保った12cm×12cmのガラス板上に均一に載せ、40℃で8時間窒素気流下で乾燥後、40℃で減圧乾燥を15時間行ない、厚さ約60μmのフィルムを得た（以下このTSPN-He p/PUブレンド材料を材料A、材料Aから得たフィルムをフィルムAと略記する）。なおこの場合、

フィルムAにはTSPN-Hepが2phr添加されていることになる。

【0026】上記フィルムA上での血漿相対凝固時間について以下の方法で評価を行った。フィルムAを直径約3cmの円形に切り抜き、直径10cmの時計皿の中央に貼りつけた。このフィルム上にウサギ（日本白色種）のクエン酸加血漿200μlを取り、0.025mol/lの塩化カルシウム水溶液200μlを加え、時計皿を37℃の恒温槽に浮かせながら液が混和するように穏やかに振盪した。塩化カルシウム水溶液を添加した時点から血漿が凝固（血漿が動かなくなる時点）までの経過時間を測定し、同様の操作をガラス上で行った場合の血漿凝固に要した時間で割り相対凝固時間として表した。ただし、ガラス板上での凝固時間の12倍を超えても血漿が凝固しない場合には評価を中断し、相対凝固時間は>12と表した。結果を表1に示した。

【0027】材料A溶液をTHFで希釈して2%とし、この溶液に40～60メッシュのガラスビーズを30分浸漬した後ガラスフィルターで濾過し、窒素気流下40℃で8時間、40℃で減圧乾燥を15時間行ってガラスビーズ表面に材料Aをコートした。ヒト血清のPBS

(一) 2倍希釈液1mlにこのコーティングビーズ100mgを浸漬し、穏やかに振盪しながら37℃で30分間インキュベートした。この液をサンプルとしてMayer法 (Mayer, M.M., "Complement and Complement fixation" Experimental Immunochimistry 2nd Ed., pl33-240, C.C.ThomasPublisher, 1961) により溶血補体価

(CH50)を測定した。結果はビーズを加えない上記希釈血清1mlにおける補体価を100%として、百分率によって表1に示した。

【0028】フィルムAの抗菌性を以下の方法で評価した。なお一連の操作は全て無菌的に行った。1/50ブ Ross液で希釈して、細菌数を約 1×10^7 個/mlとした黄色ブドウ球菌懸濁液（以下この細菌懸濁液を菌原液と呼ぶ）を調製した。この菌原液における細菌数は次のように定量した。菌原液を 10^4 倍に希釈した後100μlを普通寒天培地上にまき、24時間後に形成された黄色ブドウ球菌のコロニー数を計測した。このコロニー数をN個とすると菌原液の細菌数Cは、

$$C = 10^4 \times N / 0.1 = 10^5 \times N \text{ [個/ml]}$$

と算出される。この菌原液10μlをあらかじめ5cm×5cmに裁断して滅菌し、滅菌シャーレ上においたフィルムA上に滴下し、同じ大きさの滅菌済み市販食品包装用ラップを密着させて覆って37℃で24時間培養した。培養後被覆ラップを剥離して、フィルムAと被覆ラップ *

* からSCDLP培地10mlを用いて菌を洗い出し、10倍に希釈して普通寒天培地上にまいた。24時間後普通寒天培地上に形成された黄色ブドウ球菌のコロニー数を計測した。このコロニー数をN'個とすると、25cm²フィルムAとの接触後の菌数N_hは次の式で与えられる。

$$N_h = 100 \times N'$$

フィルムAと接触する前の菌原液の細菌数は前記Cの通りであり、使用した菌原液量は10μlであるから、フィルムA接触前の菌数N_iは

$$N_i = 1000 \times N$$

により算出される。25cm²の大きさのフィルム上でのN_iからN_hへの細菌数の変化を表1に示した。接触によって細菌数が減少するということはフィルムの抗菌性が発揮されていることを示す。

【0029】材料AのTHF4%溶液を調製して、これに既存の人工肺用ポリプロピレン製多孔質ホローファイバーを浸漬して引き揚げ、40℃で12時間乾燥することによってホローファイバーへのコーティングを行った。このホローファイバーを使用し *in vivo* で抗血栓性を評価した。実験方法は次の通りである。ペントバルビタール麻酔下でウサギ（日本白色種、♂、2.5～3.0kg）の大腿静脈を剥離して末梢側を糸で結紮し、糸から2～3cmのところを血管鉗子でクランプした。結紮部分の中枢側を眼下剪刀で血管径の1/4～1/3を切り、そこから試料であるホローファイバーを10cm、中枢側に向かって挿入した。挿入位置から1cmほどのところで血管外に出ているホローファイバーの端部を縫いつけ、ホローファイバーが流されるのを防止した。切開部分を縫合し、抗生物質を投与して、以後試料を取り出すまで2週間にわたって飼育した。2週間後へパリン加ペントバルビタールで麻酔下正中切開を施し、腹部大動脈より適当なチューブを用いて脱血してウサギを犠牲させた後、ホローファイバーを挿入した部分の血管を切断した。血管を切開してホローファイバーと血管内部を目視により観察し5段階評価を行った。結果を表1に示した。

【0030】フィルムAをPBS（一）に浸漬し、37℃の振盪恒温槽で2週間にわたって溶出を行った。PBS（一）は毎日交換した。以下、溶出後のフィルムをフィルムA'と呼ぶ。フィルムAと同様の方法でフィルムA'での血漿相対凝固時間、抗菌性についての評価を行った。結果を表1に示した。

【0031】

【表1】

	相対凝固時間 (ガラス=1.00)		補体価 (%)	抗菌性 ($\times 10^5$ 個/25cm ²)	in vivo 抗血栓性
実施例 1	A	>12	97	6.50→N. D.	a
	A'	>12	—	6.50→N. D.	—
実施例 2	B	>12	—	6.50→N. D.	—
	B'	10.8	—	6.50→0.01	—
実施例 3	C	>12	95	6.50→N. D.	a
	C'	>12	—	6.50→N. D.	—
実施例 4	D	>12	—	6.50→N. D.	—
	D'	9.7	—	6.50→0.02	—
比較例 1	E	>12	80	6.50→0.01	b
	E'	5.4	—	6.50→0.06	—
比較例 2	F	>12	—	6.50→N. D.	—
	F'	4.7	—	6.50→0.17	—
比較例 3	G	3.1	—	6.50→6.80	—
	G'	2.9	—	6.50→6.73	—

【0032】表1におけるin vivo抗血栓性の5段階評価は次の通りである。

a：血小板凝集、血栓生成、フィブリン生成いずれも観察されない

b：フィブリン生成または血小板凝集は見られるが血栓生成は観察されない

c：フィブリン生成または血小板凝集が見られ血栓生成がわずかに観察される

d：フィブリン生成または血小板凝集が見られ血栓生成がかなり観察される

e：フィブリン生成または血小板凝集が見られ大量の血栓生成が観察される

【0033】＜実施例2＞実施例1で得たTSPPN-Hepを0.1%ベンゼン溶液とし、12cm×12cmのPUフィルム上に3mg/144cm²の割合で導入されるように溶液3.00gを均一に載せ、40℃で8時間窒素気流下で乾燥後、40℃で減圧乾燥を15時間行ない、厚さ約60μmのフィルムを得た（以下このTSPPN-Hep/PUコーティングフィルムをフィルムBと略記する）。

【0034】実施例1と同様の方法でフィルムBの血漿相対凝固時間および抗菌性を測定した。また実施例1と同様の方法でフィルムBの溶出試験を実施し、得られた溶出フィルムB'の血漿相対凝固時間および抗菌性についても測定した。結果を表1に示した。

【0035】＜実施例3＞ヘパリンナトリウム塩10.

00gを蒸留水に溶解させ、全量で100mlとした。3

*（トリメトキシシリル）プロピルジメチルアルキルホスホニウムクロライド（以下TSPP・C1と略記する）22.0gをメタノール：蒸留水＝1：1の混合溶媒200mlに溶解させ、全量で320mlとした。双方の溶液を氷冷下で混合し、そのまま4℃で15時間静置して懸濁液を得た。この懸濁液を3300rpmで遠心沈降させて回収して、さらに蒸留水で懸濁後遠心分離する沈殿の洗浄を3回行い沈殿を乾燥させ、TSPP・C1-ヘパリン複合体（以下TSPP-Hepと略記する）を得た。

【0036】抗菌性付与抗血栓性組成物をTSPPN-HepからTSPP-Hepに変えた以外は実施例1と同様の方法で、TSPP-Hep/PUブレンド材料Cおよび材料CからなるフィルムCを得た。この材料CおよびフィルムCを用いて実施例1と同様の方法で、血漿相対凝固時間、補体価、抗菌性、in vivo抗血栓性を評価した。また実施例1と同様の方法でフィルムCの溶出試験を実施し、得られた溶出フィルムC'の血漿相対凝固時間、抗菌性についても評価した。結果を表1に示した。

【0037】＜実施例4＞実施例3で得たTSPP-Hepを0.1%ベンゼン溶液とし、12cm×12cmのPUフィルム上に3mg/144cm²の割合で導入されるように溶液3.00gを均一に載せ、40℃で8時間窒素気流下で乾燥後、40℃で減圧乾燥を15時間行ない、厚さ約60μmのフィルムを得た（以下このTSPP-Hep/PUコーティングフィルムをフィルムDと略記

する)。これについても実施例1と同様の評価を行い、結果を表1に示した。

【0038】＜比較例1＞ヘパリンナトリウム塩10.00gをpH5.5のMES緩衝液に溶解させ、全量で100mlとした。この溶液と塩化ベンザルコニウム10%水溶液（以下Ben・Clと略記する）110mlを氷冷下で混合し、そのまま4℃で15時間静置して沈澱を得た。この沈澱を3300rpmで遠心沈降させて回収し、凍結乾燥させることによってBen・Cl-ヘパリン複合体（以下Ben-Hepと略記する）を得た。このBen-Hepはベンゼン、DMF、クロロホルム等の有機溶媒に可溶であった。

【0039】抗菌性付与抗血栓性組成物をTBCLP-HepからBen-Hapに変えた以外は実施例1と同様の方法で、TBCLP-Hep/PUブレンド材料Eおよび材料Eから成るフィルムEを得た。この材料EおよびフィルムEを用いて実施例1と同様の方法で、血漿相対凝固時間、補体価、抗菌性、in vivo抗血栓性を評価した。また実施例1と同様の方法でフィルムEの溶出試験を実施し、得られた溶出フィルムE'の血漿相対凝固時間、抗菌性についても評価した。結果を表1に示した。

【0040】＜比較例2＞比較例1で得た材料E溶液をTHFで希釈して0.1%溶液とし、12cm×12cmのPUフィルム上に3mg/144cm²の割合で導入されるように溶液3.00gを均一に載せ、40℃で8時間窒素気流下で乾燥後、40℃で減圧乾燥を15時間行い、厚さ約60μmのフィルムを得た（以下このBen-Hep/PUコーティングPUフィルムをフィルムFと略 *

*記する)。

【0041】実施例1と同様の方法でフィルムFの血漿相対凝固時間および抗菌性を評価した。また実施例1と同様の方法でフィルムFの溶出試験を実施し、得られた溶出フィルムF'の血漿相対凝固時間および抗菌性についても評価した。結果を表1に示した。

【0042】＜比較例3＞抗菌性付与抗血栓性組成物を導入していないPUフィルム（フィルムG）を用いて血漿相対凝固時間、補体価、抗菌性を測定した。また実施例1と同様の方法でフィルムGの溶出試験を実施し、得られた溶出フィルムG'の血漿相対凝固時間、抗菌性についても評価した。結果を表1に示した。

【0043】表1のように、本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物は優れた抗血栓性を示しており、しかも溶出後においてもその性能が維持されている。これに対してベンザルコニウムを使用した比較例1、2の材料では、溶出後の性能低下が顕著に見られる。この性能の差がどのような機構によるものかは明らかではないが、本発明の有効性が示唆されている。また抗菌性についても本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物が有効であることが示される。

【0044】

【発明の効果】上述したように、本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物は優れた抗血栓性および抗菌性を有しており、しかもその性能は材料調製直後のみならず長期間の溶出操作後も維持されるものである。したがって、本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物は医療用材料の抗血栓性、抗菌性の両方を向上させた材料として優れた適性を有するものである。

フロントページの続き

(72)発明者 有森 奏
滋賀県大津市堅田二丁目1番1号 東洋紡
績株式会社総合研究所内

※(72)発明者 田中 昌和
滋賀県大津市堅田二丁目1番1号 東洋紡
績株式会社総合研究所内

※